

Daya hambat ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap populasi bakteri pada ulser recurrent aphthous stomatitis (*Inhibition effect of sambiloto leaf (Andrographis paniculata) extract towards recurrent aphthous stomatitis ulcer bacteria population*)

Cendranata WO¹, Mintarsih Djamhari K², Adiastuti Endah P²

¹ Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi

² Departemen Penyakit Mulut

Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga, Surabaya

Correspondence: Cendranata WO, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Jln. Mayjen. Prof. Dr. Moestopo no. 47 Surabaya 60132, Indonesia.
E-mail: we4rebrothers@hotmail.com

ABSTRACT

Background: Recurrent Aphthous Stomatitis (RAS) is the most common oral mucosal disease, with the clinical features is one or more painful ulcers that causes severe discomfort sensation: pain in eating, chewing, swallowing, and talking. It also often causes stress to the patient, and usually last from 7 to 10 days. The frequency of recurrence is variable from days to months. Bacteria plays role in RAS pathogenicity by causing secondary infection which delays oral mucosa recovery. Sambiloto is medicinal herb that grows widespread worldwide. It has many health benefits, one of them is antimicrobial effect. **Purpose:** The aim of this study is to know the inhibition effect of sambiloto leaf extract towards RAS ulcer bacteria. **Method:** The method that used is disc diffusion. The test subject content is sambiloto leaf extract with several concentration: 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; and the bacteria was swabbed from ulcer patient's that suffered from RAS. **Result:** The study showed that in any concentration, sambiloto leaf extract did not inhibit RAS ulcer bacteria's growth. **Conclusion:** In any concentration, sambiloto leaf extract did not inhibit RAS ulcer bacteria's growth in studied with disc diffusion method.

Key words: *Andrographis paniculata*, recurrent aphthous stomatitis, antimicrobe

PENDAHULUAN

Ulser adalah salah satu lesi jaringan lunak yang paling sering ditemukan di praktek kedokteran gigi. Salah satu yang dikategorikan sebagai *recurring ulcers* adalah *Recurrent Aphthous Stomatitis* (RAS).¹⁻³ Prevalensi RAS pada populasi umum 20-25%, dan masyarakat dengan tingkat ekonomi menengah ke atas cenderung memiliki angka prevalensi yang lebih tinggi.⁴

RAS memiliki ciri- ciri spesifik: hanya mengenai mukosa rongga mulut, Etiologi RAS belum terungkap secara jelas, tetapi mungkin multifaktorial, di mana faktor lokal, sistemik, genetik, bakterial berperan. Timbulnya RAS yang kambuhan inilah yang menyebabkan ketidaknyamanan cukup serius

bagi pasien, menyebabkan rasa nyeri saat makan, menelan, berbicara, dan juga menimbulkan stres. Stres dan kesulitan untuk makan yang disebabkan oleh RAS dapat berdampak pada kesehatan pasien secara keseluruhan.⁴⁻⁷

Berbagai macam mikroorganisme telah diisolasi dan diidentifikasi dari RAS, namun pembuktian peran mikroorganisme sebagai penyebab utama dari RAS masih diperlukan penelitian lebih lanjut. Bakteri memiliki keterkaitan dengan RAS melalui infeksi sekunder terhadap ulser RAS. Beberapa spesies bakteri yang pernah diisolasi dan teridentifikasi dari RAS adalah *Gemella Haemolysans*, *Streptococcus Mitis*, dan *Streptococcus Pneumoniae*. Dengan mengetahui adanya keterlibatan bakteri terhadap RAS, maka

salah satu terapi yang diindikasikan adalah penggunaan antimikroba.^{4,8-10}

Obat-obatan antimikroba dapat digunakan untuk terapi RAS. Pada awalnya, tiap tahun dikeluarkan sebanyak 2-3 jenis obat-obatan antimikroba jenis baru. Tetapi, setelah beberapa dekade disadari adanya keterbatasan jangka waktu efektif obat- antimikroba tersebut yang disebabkan oleh resistensi bakteri terhadap obat-obatan tersebut. Oleh karena itu, saat ini obat- obatan antimikroba alternatif mulai diteliti secara luas, Salah satu fokus utama dalam penelitian obat antimikroba alternatif adalah penggunaan tanaman obat. Tanaman obat menjadi salah satu fokus utama dalam usaha pencarian obat antimikroba alternatif karena tanaman obat telah terbukti dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit akut dan kronis.^{11,12}

Beberapa bahan kimia yang bersifat antimikroba yang didapatkan dari tanaman adalah *Phenol, Quinone, Flavonoid, Tannin, Coumarin, Terpenoid, Minyak Atsiri, Lectin, Polypeptida, Alkaloid, Polyamine, isothiocyante, Thiosulfinate, Glucoside, dan Polyacetylene*.¹¹

Sambiloto (*Andrographis paniculata*) merupakan salah satu jenis tanaman obat yang dapat tumbuh subur dan telah dibudi-dayakan di berbagai belahan dunia, termasuk di Indonesia, selain memiliki harga yang sangat terjangkau. Ditemukan bahan kimia *andrographolide* (berserta beberapa analognya), *paniculide, farnesol, protein arabinogalactan, flavonoid, saponin, alkaloid, phenol, dan tannin* dari ekstrak daun sambiloto. Beberapa penelitian telah membuktikan daun sambiloto memiliki efek antimikroba terhadap beberapa jenis bakteri.¹²⁻¹⁸

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun sambiloto dalam menghambat bakteri ulser RAS.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris, dengan rancangan *Post test control group only design*. Unit analisis yang digunakan dalam penelitian ini ialah populasi bakteri ulser *Recurrent Aphthous Stomatitis* (RAS), dengan kriteria pasien RAS minor diameter ulser 5- 7 mm, usia 20-25 tahun, mengalami RAS dengan frekuensi kambuhan minimal 1 kali dalam setiap 2 bulan pada satu tahun terakhir, dan tidak mempunyai penyakit sistemik yang mempunyai manifestasi seperti RAS tersebut.

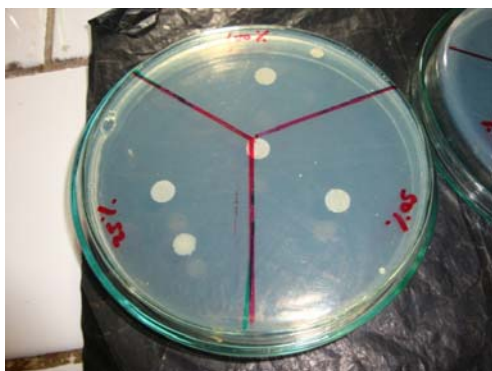
Swab dilakukan pada bagian tengah ulser RAS menggunakan *swab stick*. *Swab stick* yang berisi populasi bakteri ulser RAS dicelupkan ke tabung reaksi berisi media cair BHIB, kemudian dilakukan vibrasi. Setelah diinkubasi pada 37°C selama 18- 24 jam, kekeruhan yang terjadi disesuaikan dengan standard *McFarland 0,5* (1×10^8 CFU/ ml). Populasi bakteri ulser RAS dari media cair BHIB tabung reaksi yang telah disesuaikan tingkat kekeruhannya dibiakkan ke *petri dish* berisi *Mueller Hinton agar* dengan teknik *spreading*.

Pembuatan ekstrak daun sambiloto dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Konsultasi Industri Surabaya, dan uji laboratoris dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FKG UNAIR. Daun sambiloto yang telah kering dipisahkan dari batangnya. Setiap 300 gr daun sambiloto dimasukkan ke dalam labuh ekstrak dan ditambahkan 1 liter ethanol 99%. Dimasukkan ke dalam vibrator selama 2 x 24 jam. Disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dimasukkan ke dalam evaporator vacuum (suhu 50- 60° C, tekanan 76 mmHg) sampai pelarut ethanol terevaporasi sehingga diperoleh cairan ekstrak kental cair berwarna hijau tanpa pelarut ethanol. Di dalam ekstrak daun sambiloto yang digunakan pada penelitian ini terkandung 12,61% *polyphenol*; 2,08% *andrographolide*; 1,15% *flavonoide*; dan 0,56% minyak atsiri. *Polyphenol, flavonoide*, dan minyak atsiri merupakan bahan kimia yang memiliki efek antimikroba.

Ekstrak daun sambiloto diencerkan dengan aquadest hingga didapat 6 tabung ekstrak daun sambiloto dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6,25%, 3,125%. *Sterile paper disc* dicelupkan ke dalam tabung reaksi yang berisi ekstrak daun sambiloto dengan berbagai konsentrasi, kemudian dikeringkan. *Sterile paper disc* ditempelkan ke tiap *petri dish* yang berisi populasi bakteri ulser RAS. Inkubasi 37° C selama 18 - 24 jam. Zona hambat diukur dengan jangka sorong.

HASIL

Zona hambat yang terbentuk pada *Mueller Hinton agar* diamati secara visual setelah proses inkubasi selama 18 - 24 jam. Pada penelitian ini ternyata tidak dijumpai sama sekali zona hambat akibat efek ekstrak daun sambiloto mulai konsentrasi 100% sampai dengan 3,125% terhadap pertumbuhan populasi bakteri dari ulser RAS pada *Mueller Hinton agar*.



Gambar 1. Di sekitar *sterile paper disc* yang berisi ekstrak daun sambiloto dengan konsentrasi 100%, 50%, dan 25% tidak didapatkan bentuk lingkaran jernih, yang menandakan tidak adanya zona hambat. *Sterile paper disc* yang di tengah merupakan *sterile paper disc* kontrol yang berisi aquadest.



Gambar 2. Di sekitar *sterile paper disc* yang berisi ekstrak daun sambiloto dengan konsentrasi 12.5%, 6.25%, dan 3.125% tidak didapatkan bentuk lingkaran jernih, yang menandakan tidak adanya zona hambat. *Sterile paper disc* yang di tengah merupakan *sterile paper disc* kontrol yang berisi aquadest.

PEMBAHASAN

Pengamatan efektivitas suatu antimikroba selama ini biasanya dapat dilaksanakan melalui 2 metode, yaitu metode *disc diffusion* dan metode *serial dilution*. Pengamatan efektivitas antimikroba pada metode *disc diffusion* dilakukan dengan melihat zona hambat secara kasat mata. Sedang pengamatan efektivitas antimikroba pada metode *serial dilution* dilakukan dengan prosedur penghitungan koloni bakteri menggunakan alat *bacteria counter*. Metode *serial dilution* memungkinkan diketahuinya jumlah koloni bakteri meskipun dengan metode *disc diffusion* secara kasat mata tidak terlihat zona hambat terhadap populasi bakteri.^{12, 15-18}

Penelitian yang menggunakan metode *disc diffusion* ini secara kasat mata tidak menunjukkan adanya zona hambat. Terdapat beberapa hal yang mungkin berkontribusi terhadap tidak dijumpainya sama sekali zona hambat oleh ekstrak daun sambiloto, terhadap pertumbuhan populasi bakteri ulser RAS pada *Mueller Hinton agar*, salah satunya dapat disebabkan oleh kandungan bahan kimia antimikroba dalam ekstrak daun sambiloto yang digunakan pada penelitian ini. Peneliti tidak melakukan *cross-check* ulang apakah ekstrak daun sambiloto yang diperoleh dari laboratorium pengekstrak benar mengandung bahan-bahan kimia antimikroba seperti yang diketahui selama ini. Beberapa hal yang dapat mempengaruhi kandungan bahan kimia antimikroba dalam ekstrak daun sambiloto, antara lain adalah protokol metode penyiapan daun sambiloto meliputi usia daun (daun muda/pucuk memiliki konsentrasi kandungan bahan kimia antimikroba berbeda dengan daun setengah tua atau daun tua), teknik/proses pengeringan daun (pengeringan menggunakan sinar matahari/ultra violet, atau dengan cara diangin-angin, atau dengan menggunakan oven, dapat menyebabkan perbedaan kandungan bahan kimia antimikroba pada daun), serta derajat kekeringan daun sambiloto yang digunakan, yang semua hal tersebut dapat berpengaruh terhadap kualitas dan kuantitas kandungan bahan kimia antimikroba yang terdapat di dalam daun, tidak dikendalikan oleh peneliti.

Penyebab lain kemungkinan adalah karena peneliti terdahulu mayoritas menggunakan bakteri gram negatif di dalam penelitiannya, seperti bakteri *enteric* (saluran pencernaan). Sedangkan bakteri rongga mulut khususnya yang sering dijumpai pada ulser RAS, seperti pada penelitian ini, umumnya merupakan bakteri gram positif. Ekstrak daun sambiloto telah diketahui efektif menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri *enteric* (saluran pencernaan), akan tetapi belum tentu efektif terhadap bakteri rongga mulut, khususnya yang sering dijumpai pada ulser RAS. Menurut literatur, beberapa bakteri yang dominan pada lesi RAS adalah *Gemella haemolysans*, *Streptococcus mitis* dan *Streptococcus pneumoniae*.^{12,15-18}

Tidak terlihatnya zona hambat belum tentu membuktikan tidak adanya efek antimikroba dari ekstrak daun sambiloto. Bantuan pengujian efektivitas antimikroba ekstrak daun sambiloto dengan metode *serial dilution* mungkin dapat menjelaskan permasalahan ini, karena pada metode tersebut dapat diketahui ada tidaknya koloni bakteri

meskipun secara kasat mata dengan metode *disc diffusion* tidak terlihat zona hambat terhadap populasi bakteri.^{12,15-18}

Variabel lain yang mungkin berkontribusi terhadap ketidak-sesuaian hasil penelitian ini dengan penelitian terdahulu diantaranya adalah perbedaan dalam hal metode persiapan daun sambiloto dan jenis bakteri yang di uji, bagian tanaman sambiloto yang berbeda (akar, batang, ranting, daun, bunga, buah) mungkin memiliki kandungan atau konsentrasi antimikroba yang tidak sama.

Penyebab lain kemungkinan karena metode ekstraksi herbal di Laboratorium Penelitian dan Konsultasi Industri Surabaya menggunakan metode *UV Spectrophotometry* yang berbeda dengan metode ekstraksi yang digunakan oleh para peneliti terdahulu. Selain itu metode analisis kandungan antimikroba dan metode pengujian efektivitas antimikroba dari ekstrak daun sambiloto yang dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Konsultasi Industri Surabaya berbeda dengan metode yang digunakan oleh para peneliti terdahulu.

Penelitian ini menyimpulkan bahwa ekstrak daun sambiloto tidak efektif menghambat pertumbuhan populasi bakteri ulser RAS dengan menggunakan metode *disc diffusion*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cawson RA, Odel EW, Porter S. Cawson's essentials of oral pathology and oral medicine. 7th edition. Churchill Livingstone; Edinburgh; 2002. p.192-5.
2. Scully C, Felix DH. Oral medicine- Update for the dental practitioner: Aphthous and other common ulcers. British Dental Journal 2005; Vol 199(5): 259-63.
3. Greenberg MS, Glick M. Burket's oral medicine diagnosis & treatment. 10th edition. Ontario: BC Decker Inc; 2003. p. 50-67.
4. Field A, Longan L. Tyldesley's oral medicine. 5th edition. Oxford: Oxford University Press. 2003. p. 52-9.
5. Sonis T, Fazio RC, Fang L. Principles and practice of oral medicine. 2nd edition. USA. Philadelphia: WB Saunders Co; 1995. p. 345-9.
6. Scully C, Gorsky M, Nur FL. The diagnosis and management of recurrent aphthous stomatitis: A consensus approach. JADA 2003; 134: p. 200-7.
7. Regezi JA, Sciubba JJ, Jordan RCK. Oral pathology clinical pathologic correlations. 4th edition. Missouri: WB Saunders Co; 2003. p. 38-42.
8. Jurge S, Kuffer R, Scully C, Porter SR. Mucosal disease series: Number VI, Recurrent aphthous stomatitis. Blackwell Munksgaard: Oral Diseases; 2006. 12. p. 1- 21.
9. Marchini L, Campos MS, Silva AM, Paulino LC, Nobrega FG. Bacterial diversity in aphthous ulcers. 2007. Available at <http://www.ingentaconnect.com/content/mksg/omi/2007/00000022/00000004/art00002>. Accessed on 21 May 2010. p. 1.
10. Zunt SL. Recurrent aphthous ulcers: Prevention and treatment. The Journal of Practical Hygiene 2001. 4: Continuing Education. p. 17-23.
11. Ciocan ID, Bara II. Plant products as antimicrobial agents. analele stiintifice ale Universitatii 'Alexandru Loan Cuza', Sectiunea Genetica si Biologie Moleculara. TOM VIII. 2007. p. 151-5.
12. Xu YH, Marshall RL, Mukkur TKS. An Investigation on the antimicrobial activity of *Andrographis paniculata* extracts and *Andrographolide* in vitro. Asian Journal of Plant Sciences 2006; 5 (3): 527-30.
13. Aji W. Uji aktivitas antioksidan tablet effervescent kombinasi ekstrak etanol daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L) dan herba sambiloto (*Andrographis paniculata* [burm.f.] nees) dengan metode DPPH. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2009; p. 4-5.
14. Dalimunthe A. Interaksi sambiloto (*Andrographis paniculata*). Medan. Departemen Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara; 2009. p. 5-7.
15. Chandran SG, Hussain Z, Murugesan AG. Evaluation of antibacterial activity of *Andrographis paniculata*, nees by disk diffusion method. India. Palayamkottai: Siddha Medical College. Siddha Papers 2009.02 (06): 1-9.
16. Mishra US, Mishra A, Kumari R, Murthy PN, Naik BS. Antibacterial activity of ethanol extract of *Andrographis paniculata*. Indian Journal of Pharmacological Science 2009; J 71(4). 436-8.
17. Philip K, Sinniah SK, Muniandy S. Antimicrobial peptides in aqueous and ethanolic extracts from microbial, plant and fermented sources. Asian Network for Scientific Information. Biotechnology 2009; 8(2). 248-53.
18. Roy S, Rao K, Bhuvaneswari CH, Archana G, Mangamoori LN. Phytochemical analysis of *Andrographis paniculata* extract and its antimicrobial activity. Springer: World Journal of Microbiology and Biotechnology; 2010; 26: 85-91.